

## Autores

Fernanda Rausch Fernandes  
Eng. Agr., DSc.  
Embrapa Hortaliças  
Brasília, DF  
fernanda.rausch@embrapa.br

# Limpeza clonal de batata-doce: produção de matrizes com elevada qualidade fitossanitária

Fotos: Fernanda R. Fernandes



## Introdução

A batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) pertence à família *Convolvulaceae*, que compreende em torno de 1900 espécies, predominantemente tropicais. O gênero *Ipomoea* é o maior dentro dessa família, contendo em torno de 500 espécies (STEFANOVIC et al., 2003). A batata-doce, única espécie do gênero *Ipomoea* com importância econômica, tem a sua origem nas Américas Central ou do Sul, com um centro secundário de diversidade nas ilhas do sudoeste do Pacífico (LOEBENSTEIN e THOTTAPPILLY, 2009). É uma planta que apresenta elevada taxa de multiplicação, que comumente se dá por meio de ramas e raízes tuberosas. No início do desenvolvimento da planta, as raízes de reserva são formadas e estas, além de se constituírem fonte de reserva para a própria planta, são unidades de reprodução que emitem novas brotações se a parte aérea for eliminada ou se ressecar em situações de deficiência hídrica prolongada.

Dentre os problemas apresentados pela cultura, destaca-se como principal o processo de multiplicação vegetativa, o qual favorece a disseminação de doenças, especialmente as viroses (MOYER et al., 1989; MOYER e SALAZAR, 1989). Mais de 30 vírus que infectam a cultura da batata-doce, distribuídos em nove famílias taxonômicas, foram identificados: *Bromoviridae* (1 vírus), *Bunyaviridae* (1), *Caulimoviridae* (3), *Closteroviridae* (1), *Comoviridae* (1), *Betaflexiviridae* (1), *Geminiviridae* (15), *Luteoviridae* (1) e *Potyviridae* (9) (CLARK et al., 2012). Os vírus

que afetam a cultura são transmitidos entre plantas principalmente por moscas-brancas e pulgões (VALVERDE et al., 2004). No Brasil já foram relatadas as espécies *Sweet potato feathery mottle virus* (SPFMV), *Sweet potato latent virus* (SPLV) e *Sweet potato mild speckling virus* (SPMSV), pertencentes ao gênero *Potyvirus* (família *Potyviridae*); *Sweet potato mild mottle virus* (SPMMV, gênero *Ipomovirus*, família *Potyviridae*); *Sweet potato chlorotic stunt virus* (SPCSV, gênero *Crinivirus*, família *Closteroviridae*) e *Sweet potato chlorotic fleck virus* (SPCFV, gênero *Carlavirus*, família *Betaflexiviridae*) (KROTH et al., 2001; POZZER et al., 1993; POZZER et al., 1995a). Assim também foi isolado um vírus (denominado C-3) a partir de uma planta proveniente do Brasil (FUENTES & SALAZAR, 1989), e os dados de sequência nucleotídica obtidos indicam que o vírus pertence à família *Bunyaviridae* (CIP, não publicado).

Os vírus são os fitopatógenos mais difundidos em cultivos comerciais de batata-doce e, em função da multiplicação vegetativa, a batata-doce tende a aumentar a incidência de plantas infectadas durante os sucessivos cultivos, resultando em uma significativa redução na quantidade e qualidade da produção, fenômeno referido como degenerescência. A degenerescência por viroses e pela ocorrência do mal-do-pé (doença causada pelo fungo *Plenodomus destruens*) tem levado à perda de materiais susceptíveis. Danos consideráveis são promovidos por este acúmulo de vírus, tais como redução e deformação foliar, com reflexo negativo sobre o rendimento das raízes e redução considerável da produção comercial (Figura 1).

A acumulação de vírus pode-se constituir fator limitante para a produção de batata-doce, sendo que já foram descritas perdas de até 90% (CLARK e MOYER, 1988; CLARK e HOY, 2006; MUKASA et al., 2006; LOEBENSTEIN e THOTTAPPILLY, 2009). A perda de vigor vegetativo observada com as sucessivas multiplicações ocasiona maior propensão aos danos causados por outras doenças que ocasionalmente podem acometer a cultura ao longo do cultivo. O declínio da cultivar, um fenômeno caracterizado pela queda na produtividade e nos atributos qualitativos ao longo dos anos após a liberação do genótipo para o plantio, é uma preocupação na cultura da batata-doce (BRYAN et al., 2003a e b; CLARK et al., 2012).

Uma excelente alternativa é a produção de batata-doce semente de elevada qualidade fitossanitária por meio da limpeza clonal, que é uma técnica de cultura de tecidos vegetais utilizada para várias espécies de propagação vegetativa (tais como o morango, batata inglesa, maçã, maracujá, abacate, citros, cana-de-açúcar, entre outras espécies vegetais) para eliminar fitopatógenos. A manutenção de genótipos de batata-doce *in vitro*, assim como para outras culturas, oferece a possibilidade de produzir mudas saudáveis, isentas de infecções por fitopatógenos, com maior potencial produtivo e longevidade no campo, que possam ser multiplicadas e disponibilizadas como matrizes, sem o risco de disseminação de patógenos para outras regiões onde ainda não ocorrem.

Visando obter dados sobre o aspecto de degenerescência por viroses em batata-doce no Brasil, Pozzer et al. (1994) realizaram experimentos para determinar o grau de reinfecção pelo SPFMV em três cultivares de batata-doce (Brazlândia Branca, Brazlândia Roxa e Coquinho) livres de vírus em condições de campo, em área cultivada anteriormente com batata-doce e em outra, isolada por cultivo de cana-de-açúcar, distante de plantios e sem cultivo prévio de batata-doce. Os resultados demonstraram que houve diferença na progressão da taxa de reinfecção, sendo maior na área não isolada (em torno de 46%) em relação à área isolada (20%). Esses resultados reforçam a ocorrência da reinfecção das plantas em decorrência da população de vetores na área de cultivo, além da presença de plantas hospedeiras alternativas de vírus de batata-doce, tais como as chamadas

Foto: Fernanda R. Fernandes



**Figura 1.** Sintoma de clorose das nervuras em batata-doce.

“campainhas” e “cordas-de-viola” muito frequentes nas áreas cultivadas.

Pozzer et al. (1995b) realizaram um estudo visando comparar o desempenho de plantas de batata-doce livres de vírus, em primeira e segunda exposição a campo (PLV1 e PLV2, respectivamente) em relação a plantas provenientes de campo (PPC), das cultivares Brazlândia Branca, Brazlândia Roxa e Coquinho. Na colheita as PLV1 apresentaram ganhos significativos sobre as PPC equivalentes (104% em número de raízes comerciais, 118% no peso destas raízes, 74% no número total de raízes, 113% na produção total de raízes e 61% no número de plantas por parcela). Contudo, ao fim do ciclo, o nível de infecção das PLV1 pelo SPFMV foi similar ao das PPC. No segundo ensaio, onde se comparou a produção de PLV2 e PPC, observou-se que as PLV1 apresentaram ganhos médios de 50% no número total de raízes, 66% no peso destas, 57% no peso das raízes comerciais e 61% no número de plantas em relação às PLV2. Contudo, as PLV2 e as PPC tiveram comportamento similar em termos de produção, evidenciando que a taxa de reinfecção foi elevada o suficiente para comprometer o desempenho agrônômico das PLV2. É importante enfatizar que o plantio do material oriundo da limpeza clonal em condições que minimizem as reinfecções é condição essencial para que os ganhos em produtividade se mantenham com os sucessivos ciclos.

## Limpeza clonal: estratégia viável

São vários os fatores que colaboram para a elevada frequência de transmissão de doenças através da multiplicação vegetativa, como é o caso da batata-doce, a saber; a) os propágulos constituem partes da planta-mãe que permanecem por longo período no campo, sendo sujeitos à contaminação; b) são partes da planta que se desenvolvem junto ao solo, geralmente sendo facilmente acessíveis aos fungos e bactérias; c) são estruturas que possuem elevado teor de umidade; d) ao serem coletadas, essas estruturas sofrem cortes e ferimentos, o que facilita sobremaneira a penetração de fitopatógenos; e) não possuem sistemas de “filtragem” de vírus, tais como são as sementes verdadeiras. Na ausência de um produto químico capaz de erradicar eficientemente vírus e outros fitopatógenos de plantas infectadas, a limpeza clonal vem sendo

utilizada para a eliminação desses patógenos, visando à obtenção de material de multiplicação com alta qualidade fitossanitária.

Um protocolo otimizado e aplicável a diferentes genótipos é fundamental para a manutenção *in vitro* de germoplasma elite, propagação rápida, produção comercial, intercâmbio e pesquisa. No Centro Internacional de la Papa (CIP, Lima, Peru), um protocolo de eliminação de vírus combinando a termoterapia e a cultura de ápices caulinares é utilizado para a introdução de novos acessos de batata-doce no Banco de Germoplasma (PANTA et al., 2007). Recentemente, a crioterapia de ápices caulinares tem sido introduzida como uma alternativa potencial e muito eficiente para a terapia de vírus (WANG e VALKONEN, 2008). No Brasil, Torres et al. (1996) desenvolveram um protocolo eficiente para a obtenção direta e rápida de plantas de batata-doce livres de vírus. Esse protocolo é utilizado no Laboratório de Biologia Celular da Embrapa Hortaliças para a produção de matrizes de batata-doce com elevada qualidade fitossanitária.

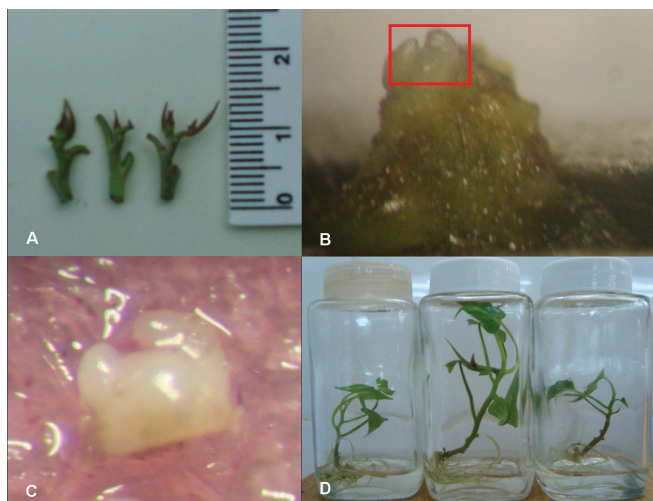
## Processo de obtenção de material propagativo de batata-doce de alta qualidade fitossanitária

Serão descritas as etapas básicas, de forma sucinta, do processo de limpeza clonal utilizado na Embrapa Hortaliças.

### (A) Preparo dos explantes e cultivo dos ápices caulinares

Inicialmente preparam-se as ramas de batata-doce com dois a três segmentos foliares para o plantio em ambiente protegido com o objetivo de prevenir a entrada de insetos transmissores de viroses. As ramas são plantadas em vasos contendo substrato e colocadas em casa de vegetação (Figura 2). Após 20 dias, aproximadamente, observa-se o crescimento das ramas e as plantas obtidas serão utilizadas como fonte de explantes. Os ápices caulinares das ramas são eliminados e, após sete dias, segmentos nodais, com aproximadamente 20 mm de comprimento, contendo uma gema lateral, são retirados e desinfestados com solução de hipoclorito de sódio 0,5%, durante 10 minutos e, em seguida, lavados com água destilada autoclavada. Posteriormente, gemas protegidas





**Figura 2.** (A) Segmentos apicais das ramas de batata-doce coletados em vasos mantidos em casa de vegetação; (B) Retirada do ápice caulinar: gema protegida por dois primórdios foliares; (C) Detalhe da estrutura do ápice caulinar; (D) Plantas de batata-doce regeneradas *in vitro* oriundas do cultivo dos ápices caulinares.

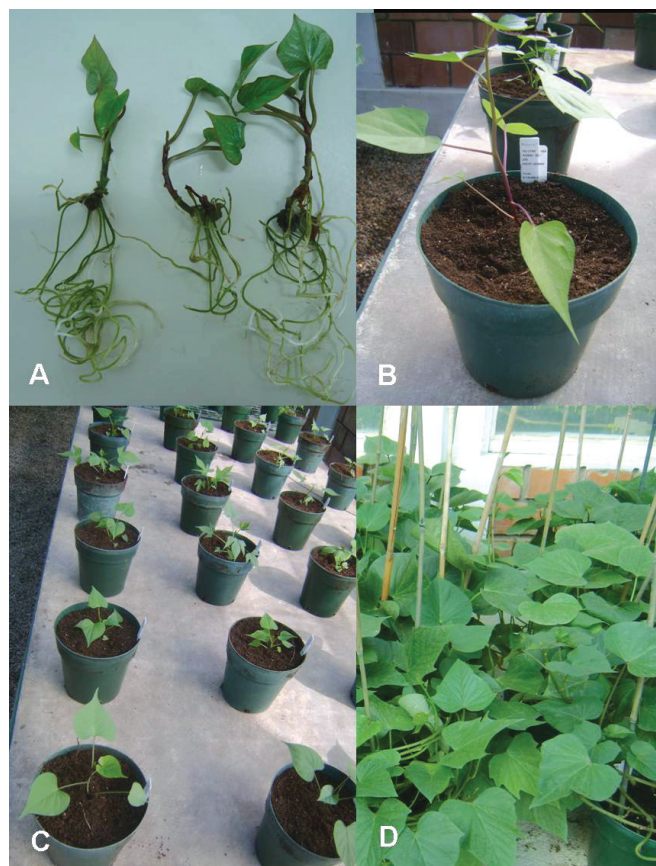
por dois primórdios foliares (ápices caulinares) são excisados das gemas laterais e inoculados individualmente, em frascos contendo meio de cultivo MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) suplementado com 100 mg.L<sup>-1</sup> inositol, 2 g.L<sup>-1</sup> GA3 (ácido giberélico), 1 g.L<sup>-1</sup> cinetina e 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose (pH 5,7), em condições assépticas (capela). Os ápices caulinares são minuciosamente excisados, de modo a evitar o contato dos tecidos adjacentes durante a manipulação. O meio de cultivo, previamente preparado, é distribuído em quantidades de 3 mL por frasco de vidro de base quadrada de dimensões 35 x 35 mm e altura 65 mm. Os frascos são vedados com tampas de polipropileno e autoclavados a 120°C durante 15 minutos. Após a inoculação dos explantes, os frascos são mantidos sob agitação orbital contínua em câmara de crescimento, com fotoperíodo de 16 horas e temperatura de 27°C. Aproximadamente 45-60 dias após a inoculação, obtêm-se plantas regeneradas a partir do cultivo dos ápices caulinares.

A plantas obtidas são então transferidas para o meio de cultivo de desenvolvimento, que contém meio de cultura MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) suplementado com 100 mg.L<sup>-1</sup> inositol, 1 mL.L<sup>-1</sup> de ANA (ácido naftalenoacético), 1 mL.L<sup>-1</sup> de cinetina, 8 g.L<sup>-1</sup> de ágar e 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose (pH 5,7).

O meio é distribuído em tubos de vidro (12,5 mL por tubo), que são autoclavados a 120°C durante 15 minutos. A planta é subcultivada com períodos de repicagem variáveis em função do aspecto de desfolha de cada genótipo. Uma das plantas oriundas do subcultivo é destinada à indexação viral, que consiste na enxertia em *Ipomoea setosa* e posterior avaliação sorológica para a diagnose viral.

### (B) Aclimação das plantas

As plântulas obtidas *in vitro* são retiradas da câmara de crescimento, os tubos de ensaio são abertos e um pouco de água é adicionado. Dois dias após procede-se a retirada das plantas dos tubos e a lavagem do sistema radicular para a remoção do meio de cultura (Figura 3). Posteriormente realiza-se o transplantio em vasos contendo vermiculita previamente umedecida. Os vasos são recobertos com saco plástico umedecido e mantidos em casa de vegetação. Aproximadamente dez dias após procede-se a indexação viral.



**Figura 3.** (A) Plantas de batata-doce regeneradas *in vitro* e no ponto de serem transplantadas para vasos em casa de vegetação; (B) Planta de batata-doce logo após o transplantio; (C) Detalhe das plantas de batata-doce após o transplantio em casa de vegetação; (D) Plantas de batata-doce aos dois meses após o transplantio.

### (C) Indexação viral

A planta indicadora mais utilizada para detecção de viroses em batata-doce é a espécie *Ipomoea setosa*, por ser sensível a praticamente todos os vírus que infectam a cultura, tornando-se um processo eficiente e de baixo custo. Após a indexação biológica em *I. setosa* é realizada a detecção viral via sorologia por meio dos antissoros disponibilizados pelo CIP. O kit sorológico não funciona com amostras de batata-doce aplicadas diretamente à membrana, sendo que os antissoros reagem fortemente com o extrato de plantas sadias (controle negativo), daí a necessidade de realizar a enxertia prévia em *I. setosa*. As amostras a serem testadas são previamente coletadas, enxertadas em *I. setosa* e, posteriormente, folhas de *I. setosa* são testadas (Figura 4). Para cada amostra, realiza-se a enxertia em três plantas de *I. setosa*, tomando o cuidado para evitar contaminação do enxerto como a utilização de lâminas individuais para cada genótipo enxertado e a lavagem das mãos com sabão em água corrente a cada mudança de genótipo. O procedimento de enxertia consiste em utilizar excisões de aproximadamente 3 cm de comprimento de ramas de batata-doce coletadas como enxerto em *I. setosa*. As excisões são cortadas em bisel e enxertadas lateralmente na região do hipocótilo das plantas-teste (*I. setosa*) que têm suas folhas e ápice destacados. Enxerto e porta-enxerto são unidos por meio de uma presilha. Posteriormente, as plantas são cobertas por plástico umedecido por um período de dois dias e identificadas com o registro dos genótipos utilizados como enxerto e a data de realização da enxertia. Adicionalmente, as plantas são mantidas em casa de vegetação e continuamente observadas quanto à manifestação de sintomas nas novas folhas emergentes de *I. setosa* por um período de 30 dias. Posteriormente, três folhas de *I. setosa* são coletadas (uma de cada planta que recebeu enxerto do mesmo acesso de batata-doce), formando uma amostra composta, e são levadas ao Laboratório de Virologia Vegetal da Embrapa Hortaliças para a diagnose viral pela técnica NCM-Elisa. Assim as plantas de batata-doce são indexadas para dez vírus: *Sweet potato feathery mottle virus* (SPFMV), *Sweet potato latent virus* (SPLV), *Sweet potato mild speckling virus* (SPMSV), *Sweet potato virus G* (SPVG), *Sweet potato mild mottle virus* (SPMMV), *Sweet potato chlorotic fleck virus* (SPCFV), *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Sweet potato chlorotic stunt virus* (SPCSV), *Sweet potato C-6 virus* e *Sweet potato collusive virus* (SPCV).



Fotos: Fernanda R. Fernandes

**Figura 4.** Etapas do processo de indexação viral de batata-doce realizado na Embrapa Hortaliças. (A) Sementes de *Ipomoea setosa* prontas para a semeadura; (B) Germinação das sementes; (C) *Ipomoea setosa* em desenvolvimento; (D) Planta em ponto de enxertia; (E) Retirada das amostras de batata-doce; (F) Retirada das folhas e preparo do enxerto; (G) Preparo do porta-enxerto: retirada das folhas e corte em forma de bisel no caule de *Ipomoea setosa*; (H) Planta enxertada; (I) Registro dos dados e adaptação do plástico nos vasos; (J) Plantas em fase de aclimação pós-enxertia; (K) Plantas em fase de coleta para análise por NCM-Elisa; (L) Planta evidenciando os sintomas pela infecção viral; (M) À esquerda: folha de uma planta de batata-doce que foi testada; à direita: folha de *Ipomoea setosa* aos 30 dias após a enxertia; (N) Aspecto do resultado da avaliação por NCM-Elisa.

As amostras são processadas por meio de maceração manual com o auxílio de um pequeno rolo na presença do tampão de extração 0,5 PBS (0,07M NaCl + 1mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  + 4mM  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  + 1mM KCl). Alíquotas (6  $\mu\text{L}$ ) dos extratos de cada amostra são aplicadas em membrana de nitrocelulose (Millipore 0,45  $\mu\text{M}$ ), assim como os controles de planta sadia (negativo) e controles positivos que acompanham o kit de antissoros do CIP. As membranas são deixadas para secar por um período de 1 hora em temperatura



ambiente para a fixação do extrato vegetal aplicado à membrana. Em seguida, as membranas são mergulhadas em solução bloqueadora composta pelo tampão 0,5 PBS, acrescido de 2% de leite em pó desnatado, permanecendo por 1 hora a temperatura ambiente sob agitação de 60 rpm. Após o bloqueio, as membranas são colocadas no IgG (imunoglobulina) antissoro na diluição 1:1000 sob agitação constante de 60 rpm. No dia seguinte as membranas são submetidas à tríplice lavagem em tampão 0,5 PBS, em intervalos de 3 minutos, sob agitação a 100 rpm e, em seguida, incubadas numa solução de tampão 0,5 PBS. Posteriormente dilui-se o anti-IgG (imunoglobulina) geral para todos os dez vírus testados (1:1000) e as membranas permanecem incubadas por 4 horas com agitação de 60 rpm. Após o período de incubação, as membranas são submetidas à tríplice lavagem em tampão 0,5 PBS, em intervalos de 3 minutos, sob agitação a 100 rpm. Posteriormente inicia-se a fase de revelação, onde a detecção do complexo antígeno-anticorpo ocorre adicionando-se 10 mL de tampão de revelação (100mM NaCl + 100mM Tris-base + 5mM MgCl<sub>2</sub>) acrescido de 30 µL BCIP e 60 µL NBT. A interpretação dos resultados é feita visualmente, considerando-se positivas as amostras que resultam no aparecimento de manchas de coloração púrpura na membrana de nitrocelulose e negativas quando mantida a coloração de clorofila verde.

As plantas consideradas negativas na avaliação sorológica são conduzidas e multiplicadas para novos vasos por meio das ramas em cultivo protegido. Essas plantas servem como fonte de material de propagação para a instalação de lavouras de batata-doce (Figura 5).

Foto: Fernanda R. Fernandes



**Figura 5.** Lavoura de batata-doce oriunda de ramas de elevada qualidade fitossanitária da cultivar Beauregard em propriedade rural localizada no Núcleo Rural Rio Preto (DF).

## Considerações finais

Na ausência de fontes de resistência, o controle de viroses de batata-doce está praticamente limitado ao uso de material propagativo livre de vírus e plantio em condições que minimizem as reinfecções. É importante considerar que a taxa de reinfecção das plantas pode ser inaceitável, como resultado de uma elevada densidade de plantas hospedeiras alternativas e insetos vetores durante a estação de crescimento (CLARK et al., 2012).

A produção de material propagativo de batata-doce pelo processo de limpeza clonal apresenta vantagens e desvantagens. Podem-se enumerar as vantagens:

- Elevado vigor e uniformidade das mudas produzidas;
- Manutenção dos genótipos de batata-doce sob condições livres de estresses bióticos (patógenos e pragas) e abióticos (condições ambientais adversas);
- Disponibilidade de material vegetal para propagar grande número de plantas de forma bastante rápida sempre que houver demanda;
- Produção de mudas enraizadas e prontas para serem levadas ao campo para serem cultivadas;
- Melhor logística no sistema de produção de mudas, haja vista que a disponibilidade de produção pode ser plenamente adequada de acordo com a demanda em termos de época e local de plantio.

Entre as desvantagens, pode-se citar:

- Necessidade de uma infraestrutura adequada para a execução de todas as etapas de produção: recepção, limpeza clonal, multiplicação *in vitro*, indexação viral e produção de mudas;
- Necessidade de mão-de-obra especializada para a execução das atividades;

É importante comentar algumas situações em que o emprego de materiais de batata-doce oriundos de limpeza clonal torna-se de importância altamente recomendada: (i) na manutenção de acessos de banco de germoplasma de interesse nos programas de melhoramento genético da espécie; (ii) na introdução da cultura em novas regiões de plantio,

onde ainda não ocorram problemas fitossanitários de difícil manejo, tais como o mal-do-pé; (iii) na multiplicação rápida de genótipos selecionados pelos programas de melhoramento genético, antes do lançamento de novas cultivares; (iv) na introdução/substituição de novas cultivares, quando não se dispõe de mudas convencionais dessas cultivares para iniciar o plantio de grandes áreas; (v) no intercâmbio de germoplasma para se evitar a introdução de pragas e fitopatógenos exógenos. (vi) na produção de material básico para atender aos programas de produção de mudas certificadas de batata-doce.

Finalmente, é importante registrar que a qualidade fitossanitária de um campo de produção da batata-doce dependerá, em grande parte, da qualidade fitossanitária do material utilizado na propagação.

## Referências

- BRYAN, A. D.; PESIC-VANESBROECK, Z.; SCHULTHEIS, J. R.; PECOTA, K. V.; SWALLOW, W. H.; YENCHO, G. C. Cultivar decline in sweetpotato: II. Impact of virus infection on yield and storage root quality in 'Beauregard' and 'Hernandez'. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 128, n. 6, p. 856-863, Nov. 2003a.
- BRYAN, A. D.; SCHULTHEIS, J. R.; PESIC-VANESBROECK, Z.; YENCHO, G. C. Cultivar decline in sweetpotato: I. Impact of micropropagation on yield, storage root quality, and virus incidence in 'Beauregard'. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 128, n. 6, p. 846-855, Nov. 2003b.
- CLARK, C. A.; DAVIS, J. A.; ABAD, J. A.; CUELLAR, W. J.; FUENTES, S.; KREUZE, J.F., GIBSON, R. W.; MUKASA, S. B.; TUGUME, A. K., TAIRO, F. D., VALKONEN, J. P. T. Sweetpotato Viruses: 15 Years of Progress on Understanding and Managing Complex Diseases. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 96, n. 2, p. 168-185, 2012.
- CLARK, C. A.; HOY, M. W. Effects of common viruses on yield and quality of Beauregard sweetpotato in Louisiana. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 90, p. 83-88, 2006.
- CLARK, C. A.; MOYER, J. W. **Compendium of Sweet Potato Diseases**. Saint Paul, APS Press, 1988. p. 74.
- FUENTES, S.; SALAZAR, L. F. Identification of sweetpotato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam] viruses. **Fitopatología**, Santiago de Chile, v. 24, p. 43, 1989.
- KROTH, L. L.; FUENTES, S.; SALAZAR, L. F.; DANIELS, J. Detecção sorológica de vírus por NCM-Elisa em lavouras de batata-doce no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 7, n. 2, p. 117-119, 2001.
- LOEBENSTEIN, G.; THOTTAPPILLY, G. (Ed.). **The Sweetpotato**. The Netherlands: Springer, 2009.
- MOYER, J. W.; JACKSON, G. V. H.; FRISON, E. A. (Ed.). **Technical Guidelines for the Safe Movement of Sweet Potato Germplasm**. Rome: FAO: IBPGR, 1989.
- MOYER, J. W.; SALAZAR, L. F. **Virus and viruslike diseases of sweet potato**. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 73, p. 451-455, 1989.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.
- MUKASA, S. B.; RUBAIHAYO, P. R.; VALKONEN, J. P. T. Interactions between a crinivirus, an ipomovirus and a potyvirus in coinfecting sweetpotato plants. **Plant Pathology**, Oxford, v. 55, n. 4, p. 458-467, Aug. 2006.
- PANTA, A. C.; ESPINOZA, C.; YNOUYE, C.; FUENTES, S.; ROCA, W. **Virus incidence and elimination in sweetpotato germplasm: implications to biodiversity conservation and utilization**. CIP, in preparation. 2007.
- POZZER, L.; DUSI, A. N.; LIMA, M. I.; KITAJIMA, E. W. Caracterização de um isolado brasileiro de Sweet Potato Feathery Mottle Virus. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 20, n.1, p. 65-71, 1995a.
- POZZER, L.; DUSI, A. N.; SILVA, J. B. C. E.; KITAJIMA, E. W. Detecção de viroses na coleção de germoplasma de batata-doce do CNPH. In: **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 18, p. 289, 1993.

POZZER, L.; SILVA, J. B. C.; DUSI, A. N.; KITAJIMA, E. W. Performance of micropropagated sweet potato plants after two field propagations and rate of reinfection by sweet potato feathery mottle virus. **Fitopatologia Brasileira**, DF, v. 20, n. 3, p. 464-468, 1995b.

POZZER, L.; SILVA, J. B. C.; DUSI, A. N.; KITAJIMA, E. W. Avaliação da taxa de reinfecção de plantas de batata-doce livre de vírus pelo Sweet potato feathery mottle virus em condições de campo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 19, n. 2, p. 231-234, 1994.

STEFANOVIC, S.; KRUEGER, L.; OLMSTEAD, R. G. Monophyly of the Convolvulaceae and circumscription of their major lineages based on DNA sequences of multiple chloroplast loci. **American Journal of Botany**, Ohio, v. 89, n. 9, 1522, 2002.

TORRES, A. C.; TEIXEIRA, D. M. C.; MOITA, A. W.; CAMPOS, M. de A. C. Recuperação de plantas de batata-doce livres de vírus a partir da regeneração direta de ápices caulinares. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 8, n. 3, p. 209-213, 1996.

VALVERDE, R. A.; SIM, J. G.; LOTRAKUL, P. Whitefly transmission of sweet potato viruses. **Virus Research**, Amsterdam, v. 100, p. 123-128, 2004.

WANG, Q. C.; VALKONEN, J. P. T. Elimination of two viruses which interact synergistically from sweetpotato using shoot tip culture and cryotherapy. **Journal Virological Methods**, Amsterdam, v. 154, p. 135-145, 2008.

#### Circular Técnica, 117

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na  
Embrapa Hortaliças  
Rodovia BR-060, trecho Brasília-Anápolis, km 9  
C. Postal 218, CEP 70.351.970 – Brasília-DF  
Fone: (61) 3385.9000  
Fax: (61) 3556.5744  
E-mail: cnph.sac@embrapa.br

1ª edição

1ª impressão (2013): 1.000 exemplares

#### Comitê de Publicações

**Presidente:** Warley Marcos Nascimento

**Editor Técnico:** Fábio Akiyoshi Suinaga

**Supervisor Editorial:** George James

**Secretária:** Gislaine Costa Neves

**Membros:** Mariane Carvalho Vidal, Jadir Borges  
Pinheiro, Ricardo Borges Pereira, Ítalo  
Moraes Rocha Guedes, Carlos Eduardo  
Pacheco Lima, Marcelo Mikio Hanashiro,  
Caroline Pinheiro Reyes, Daniel Basílio  
Zandonadi

#### Expediente

**Normalização bibliográfica:** Antonia Veras

**Editoração eletrônica:** André L. Garcia